 doi 10.3969/j.issn.1674-4500.2016.02.29 分子影像学2016年第39卷第2期

基础研究

结合性能验证实验分析尿白蛋白室间质评结果

邸玉玮,黎艳湘,梁敏文,陈楚仪
广东省人民医院//广东省医学科学院,广东 广州 510080

摘要:目的 通过检测系统性能验证,分析尿白蛋白室间质评成绩不满意的可能原因及是否影响临床样本检测。**方法** 回顾室内质控结果,检查仪器及试剂状态;复检剩余的EQA质控样本;对于透散比浊法、散射比浊法检测尿白蛋白进行分析测量范围验证(EP6-A);检测40份患者尿液样本,对于透射比浊法、散射比浊法检测准确度差异进行分析(EP9-A2);分析CAP尿液能力验证实验结果,与其他实验室进行临床样本比对。结果 室内质控均在控,复测结果与上报结果一致,分析测量范围分析显示两个方法没有显著差异,两种方法检测患者新鲜尿标本差异在允许误差范围内;两次CAP质评回报满意(PT=100%),两种方法间无明显差异;与其他实验室两次比对偏奇在1/2PT范围内。**结论** 本实验室透散比浊法、散射比浊法检测尿白蛋白尿白差异小,准确度好,室间质评成绩不影响临床样本的检测质量。
关键词:室间质量评价;尿微量白蛋白;免疫透射比浊法;免疫散射比浊法

ALBU external quality assessment analysiscombined with experiment of performance verification

DI Yuwei, LI Yanxiang, LIANG Minwen, CHEN Chuyi
Guangdong General Hospital, Guangzhou 51008, China

Abract: Objective To analyse the reasons of ALBU EQA unacceptable. **Methods** The quality control data were reviewed, the EQC samples stored in −80 ℃ were reran with instruction status checked. Measuring range evaluation of ALBU of turbidimetry and scatteringmetry were performed. The accuracy of turbidimetry and scatteringmetry were ompareed through detected ALBU in 40 clinical samples. ALBU CAP proficiency testing results were analyzed. **Results** The IQC data were in control, rerun data were accordance with reported data, the ALBU measuring range of turbidimetry and scatteringmetry is uniformity, the accuracy of turbidimetry and scatteringmetry detecting ALBU in clinical samples were similar. The evaluation results of CAP proficiency testing were acceptable, the bias between turbidimetry and scatteringmetry detecting ALBU were limited. **Conclusion** ALBU EQC unacceptable will not affect the accuracy of clinical sample results .
Key words: EQC; performance verification; CAP; PT

室间质量评价是多家实验室分析同一样本,外部独立机构收集和反馈实验室上报的结果,并依此评价实验室操作的过程。作为一种质量控制工具,室间质量评价可以帮助实验室分析存在的问题,采取相应措施,提高检验质量。我室连续两次参加尿液定量生化检测室间质量评价中尿微量白蛋白项目均未通过,PT成绩为0、40,检测仪器为全自动生化分析仪或特殊蛋白分析仪,检测方法为透散比浊法或散射比浊法。收到质评报告后,实验室应首先分析结果不满意原因,排除仪器、试剂因素、回顾当日室内质控结果,其它可能原因是:①检测偶然误差;②透射比浊法与散射比浊法方法间的差异;③两方法间准确性差异;④质控物基质效应或其他原因。更重要的是判断实验室检测系统是否在临床样本检测中存在同样偏倚,是否需要采取相应的质量控制措施。因此,我们通过质评物复测、分析测量范围验证、准确度比对,对于实验室所具备的透射比浊法、散射比浊两种检测系统进行性能分析,并结合参加美国病理专家协会CAP尿液定量生化能力验证活动结果,通过与其他实验室进行临床样本比对,分析室间质评结果不满意原因,评估对临床样本检测质量的影响,以确定后续处理措施。

收稿日期:2016-05-04
基金项目:广东省医学科研基金(A2014025),广州市科研专项(1563000383—般项目)
作者简介:邸玉玮,博士,副主任技师, E-mail: diyuweinn@163.com

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与样品制备

均由美国贝克曼公司提供,免疫散射比浊分析仪微量白蛋白(批号:M206169)检测使用仪器为IMMAGE特种蛋白分析仪;免疫透射比浊分析仪微量白蛋白(批号:M212083)检测使用仪器为DXC800生化分析仪。

校准品及质控，校准品产自美国贝克曼公司；质控品百乐尿液质控批号为:55541、55542。样品：广东省人民医院临床尿液，新鲜标本或2~8 ℃保存，不超过3 d，避免反复冻融。−80 ℃保留的尿液定量生化室间质评(EQA)五个水平质控品。CAP尿液定量生化质控品。

1.2 实验方法

1.2.1 功能灵敏度试验 免疫散射比浊分析仪的检测范围为2.0~8640 mg/L，仪器给出的最低报告值为2，本试验用贝克曼稀释液将收集到检测值为2.27的标本稀释2倍，与3份尿液临床样本构成浓度为1.13、2.27、2.56、4.83、9.82的系列低值样本。每浓度各分装10份，每天检测4份，连续检测3 d获得50个测定值。计算每个浓度组的均值、标准差和变异系数。以变异系数为20%的最低浓度为功能灵敏度[1-3]。

1.2.2 分析测量范围 收集接近试剂提供的线性上限和下限临床标本，制备低、高浓度的混合尿液。H与L按L，0.8 L+0.2 H，0.6 L+0.4 H，0.4 L+0.6 H，0.2 L+0.8 H，H的关系配置成系列浓度尿液。每份混合血清重复检测2次，记录结果。在精密度符合要求的情况下，利用SPSS软件对实验数据进行多项式回归统计分析。将所得数据拟合为一次($Y=b_0+b_1X$)、二次($Y=b_0+b_1X+b_2X2$)和三次($Y=b_0+b_1X+b_2X2+b_3X3$)多项式。其中b_0和b_1为线性系数，b_2和b_3为非线性系数，用t检验判断b_2和b_3与0有无差异，若与0无差异则直接判断为线性，确定分析测量范围；反之为非线性，再计算非线性模型与线性模型的线性偏离，与线性允许误差(以卫计委临床检验中心1/2PT±15%为标准)相比较，若在线性允许误差范围内，则引入的误差不超过临床允许误差目标，实验室按线性关系来处理，若在线性允许误差范围外，则舍去某组数据，缩小分析测量范围后，再次进行多项式回归分析，若缩小分析范围后，回归式有明显改善，b近于1，a趋于0，则缩小的分析范围是真实的可报告范围[2-4]。

1.2.3 正确度比对 每日收集8份住院及门诊患者检测线性范围内高、中、低值的尿标本，检测5个工作日得出40份数据，根据EP9-A2文件进行统计分析。散射比浊法为比较方法(X)；透射比浊法为实验方法(Y)。按医学决定水平浓度计算实验方法(Y)与比较方法(X之间的系统误差(SE)，SE=｜YC-XC｜ 系统误差率SE%=SE/XC×100% [2-3, 5]。

选择浓度均匀分布于线性范围内的5~8支临床样本，与其它实验室用相同的检测系统检测，以卫计委临床检验中心1/2PT (±15%)为标准，≥80%样本检测偏奇。在范围内为比对结果满意。

1.3 统计学处理

所有数据均用SPSS16.0软件进行分析。

2 结果

2.1 两次国内室间质评结果不满意

本室具备透散比浊、散射比浊2个检测系统。第1次室间质评回报透射比浊法检测结果，5个样本全部系统性偏高，但散射比浊法检测结果全部在范围内。第2次室间质评报散射比浊法检测结果，表现为系统偏低，3个样本不在范围，而透射比浊法结果系统偏高，2个样本不在范围内(表1)。

表1 两次国内室间质评结果(mg/L)

第1次EQC	我室结果(透射比浊法)	允许范围	评价结果(PT:0%)	第2次EQC	我室结果(散射比浊法)	允许范围	评价结果(PT:40%)
1	28.4	9.94~18.46	未通过	1	17.6	19.56~36.34	未通过
2	92.3	42.49~78.91	未通过	2	67.3	47.11~87.49	通过
3	95.4	42.42~78.78	未通过	3	19.8	22.43~41.66	未通过
4	39.2	10.15~18.85	未通过	4	61.9	44.10~81.90	通过
5	119.2	51.94~96.46	未通过	5	18.4	21.88~40.62	未通过

分析室间质评结果，首先回顾检测当日室内质控及临床样本检测结果，室内质控(百乐第三方质控)在控，当日临床样本历史对照分析相符，仪器、试剂均无异常。下一步需排除检测当日偶然误差。

2.2 排除偶然误差

复测-80 ℃保存的质控物，以排除检测时的偶然误差。对于2次室间质评，均在收到结果后复测-80 ℃保存的质控物，复测结果与上报结果无显著差异，可以排除检测时的偶然误差。2次复检中均发现透射比浊法结果系统偏高，散射比浊法系统偏低(表2)，怀疑是否由于两种检测系统之间的方法学差异导致室间质评结果不满意。因两次质评样本集中于中低值，下一步将使用临床样本，对不需要手工/仪器稀释的检测范围进行验证，并对两方法间的差异进行分析。

2.3 两种方法的分析测量范围验证

使用临床样本进行两种方法的分析测量范围验证，

表2 散射比浊与透射比浊法复测质控物结果(mg/L)

第1次QC	允许范围	散射比浊法			透射比浊法		
		原结果	复检结果	复检评价	原结果	复检结果	复检评价
1	9.94~18.46	-	12	通过	28.4	32.43	未通过
2	42.49~78.91	-	53.5	通过	92.3	108.95	未通过
3	42.42~78.78	-	53.6	通过	95.4	113.28	未通过
4	10.15~18.85	-	12.7	通过	39.2	47.59	未通过
5	51.94~96.46	-	64.9	通过	119.2	149.96	未通过
第2次QC	允许范围	散射比浊法			透射比浊法		
		原结果	复检结果	复检评价	原结果	复检结果	复检评价
1	19.56~36.34	17.6	14.9	未通过	-	32.52	通过
2	47.11~87.49	67.3	61.7	通过	-	96.25	未通过
3	22.43~41.66	19.8	15.7	未通过	-	33.05	通过
4	44.1~81.9	61.9	55.3	通过	-	90.08	未通过
5	21.88~40.62	18.4	15.7	未通过	-	32.52	通过

包括功能灵敏度、线性范围验证。

2.3.1 功能灵敏度验证 功能灵敏度(FS)是指以日间重复CV为20%时对应检测限样品具有的平均浓度。这是检测系统或方法可定量报告分析物的最低浓度或其他量值的限值[3]。说明书上散射比浊法(特殊蛋白分析仪)的检测范围为2~300 mg/L ,使用仪器自动稀释功能后测量范围为2~8640 mg/L,而透射比浊法(全自动生化分析仪)的检测范围为2~300 mg/L,无仪器自动稀释功能。检测理论浓度在1.13、2.27、2.56、4.83、9.82的系列低值样本(表3),证明在2 mg/L浓度处,CV小于20%,透射比浊法、散射比浊法检测尿液微量白蛋白的功能灵敏度均为2 mg/L,与说明书一致。

表3 分析灵敏度计算(mg/L)

检测结果		1	2	3	4	5
理论值		1.130	2.270	2.560	4.830	9.820
	平均值	2.090	2.390	3.250	4.780	9.420
透射比浊法	S	0.158	0.356	0.150	0.252	0.268
	CV%	7.550	14.905	4.615	5.276	2.841
	平均值	2.00	2.027	2.358	4.564	9.068
散射比浊法	S	0.00	0.081	0.140	0.212	0.319
	CV%	0.00	3.996	5.921	4.649	3.519

2.3.2 线性范围验证 取高值尿液标本H和低值尿液标本L以表4的样本配置进行测定,根据EP6A方法进行多项式回归统计分析,统计结果透射比浊法符合二元二次方程,9个系统浓度水平与线形偏倚小于15%(卫生部临床检验中心EQC标准30%),故分析测量范围上限可确定为透射比浊法:277.4 mg/L。得出分析测量范围为:1.62~277.4 mg/L(表4)。散射比浊法符合二元三次方程,9个系统浓度水平与线形偏倚小于15%,得出未自动稀释时分析测量范围为 2~246.5 mg/L(表5),与生产商声明的2~300 mg/L一致。

2.4 两方法间准确度差异分析

分别使用透射比浊和散射比浊法检测40份患者尿液样本,去除超过检测范围的数据,以散射比浊法为比较方法(X),透散比浊法为实验方法(Y),按EP-9A2方

表4 透射比浊法线性范围验证(全自动生化分析仪)(mg/L)

样本配制	标本编号	测量值1	测量值2	均值
8L	1	1.6	1.24	1.42
7L+H	2	32.8	32.21	32.51
6L+2H	3	67.4	68.02	67.71
5L+3H	4	102.2	99.82	101.01
4L+4H	5	136.4	129.46	132.93
3L+5H	6	171.4	166.10	168.75
2L+6H	7	207.1	201.14	204.12
L+7H	8	242.5	232.95	237.73
8H	9	277.7	277.10	277.40
		多项式回归		
1st	b1	34.336	*t*(v=16)	113.008
2nd	b2	0.302	*t*(v=15)	3.991
3rd	b2	-0.256	*t*(v=14)	-0.485
3rd	b3	0.037		1.069
		符合二元二次方程		
测量均值	预期值1st	预期值2nd	差值(2nd-1st)	%差值
1.42	1.32	1.43	0.117	8.90%
32.505	32.95	33.65	0.704	2.14%
67.71	67.28	66.47	-0.81	-1.20%
101.01	101.62	99.90	-1.72	-1.69%
132.93	135.95	133.93	-2.026	-1.49%
168.75	170.29	168.56	-1.728	-1.01%
204.12	204.63	203.80	-0.826	-0.40%
237.725	238.96	239.64	0.68	0.28%
277.4	273.30	276.09	2.79	1.02%

*9个浓度点偏倚均在15%范围内.

法进行分析(图1)。

通过临床样本检测，透射比浊法与散射比浊法比较，其在正常参考范围上限30 mg/24 h，及临床决定水平300 mg/24 h处的预期偏倚为3.36%，6.69%(表6)，我室定义卫计委临检中心1/2PT(15%)为评价标准，预期偏倚在范围内。两种方法对于临床样本的检测结果一致。

2.5 CAP质评结果分析及其他临床样本检测比对

从上述内容得知，偶然误差、透射比浊法与散射比浊法的差异原因被一一排除。重要的是，实验室需要决定是否因这两次室间质评成绩不满意采取后续的质量控制措施。同期，我室参加了美国CAP室间质评尿液定量生化项目，对两种方法都进行了评价。两种方法检测结果均在回报范围内(表7)，而且方法间的偏倚很小。说明本室检测系统的准确度可靠，可以通过参加CAP室间质评重新评价。

另外，我们还选择在测量范围内均匀分布的5~8支临床样本，使用散射比浊法检测，与其它实验室相同检测系统进行了比对，结果显示全部样本相对偏倚在1/2PT (±15%)范围内(表8)。说明我室的检测系统准确性可靠，不需要对临床样本检测进行更正或启动其它的质量控制措施。前述室间质评结果不满意很大可能性是由于质控物的基质效应或其它原因导致的，但因未能获得其它实验室相同检测系统对相同质评物的检测结果，不能确定具体原因。

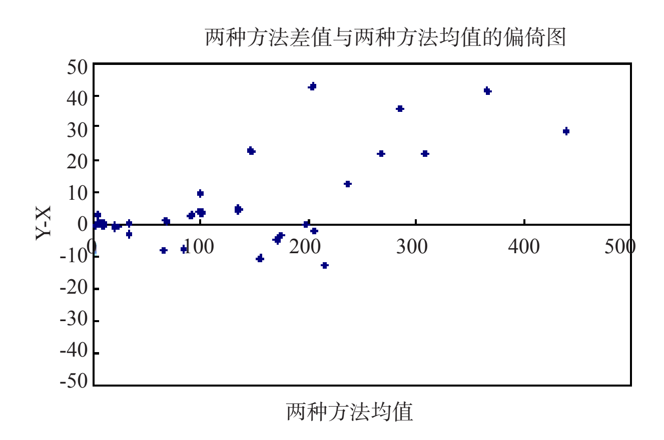
3 讨论

尿微量白蛋白可以使用全自动生化分析仪透射比浊法，也可以使用特殊蛋白分析仪散射比浊法检测。大型综合医院临床实验室可能两种检测方法同时具备。室间质评结果不满意后的分析包括偶然误差、仪器及试剂的检查、室内质控结果的回顾、检测方法间的差异、质

表5 散射比浊法线性范围验证(特殊蛋白分析仪)(mg/L)

样本配制	标本编号	测量值1	测量值2	均值
8L	1	2	2.00	2.00
7L+H	2	34.5	34.00	34.25
6L+2H	3	66.5	64.00	65.25
5L+3H	4	98.4	96.00	97.20
4L+4H	5	132	132.00	132.00
3L+5H	6	175	173.00	174.00
2L+6H	7	220	193.00	206.50
L+7H	8	230	217.00	223.50
8H	9	256	237.00	246.50
		多项式回归		
1st	b1	31.751	t(v=16)	31.513
2nd	b2	-0.717	t(v=15)	-1.881
3rd	b2	4.703	t(v=14)	2.891
3rd	b3	-0.361		-3.366
		符合二元三次方程		
测量均值	预期值1st	预期值3rd	差值(3rd-1st)	% 差值
2	4.24	3.62	-0.62	-14.57%
34.25	35.99	31.29	-4.703	-13.07%
65.25	67.74	64.03	-3.714	-5.48%
97.2	99.49	99.68	0.183	0.18%
132	131.25	136.07	4.822	3.67%
174	163.00	171.03	8.037	4.93%
206.5	194.75	202.41	7.662	3.93%
223.5	226.50	228.03	1.531	0.68%
246.5	258.25	245.73	-12.522	-4.85%

*9个浓度点偏倚均在15%范围内.



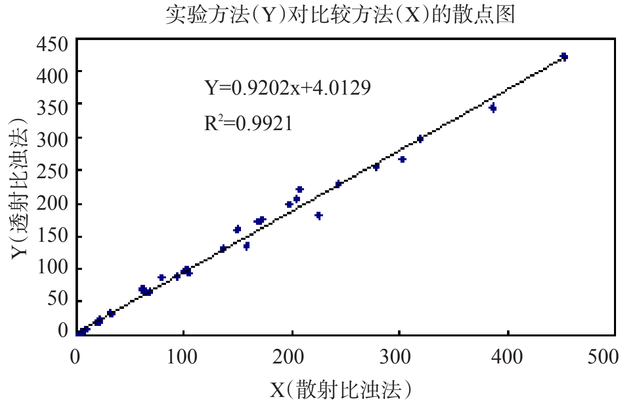




图1 透射比浊法/散射比浊法检测临床样本准确度差异分析

控物基质效应等。重要的是评估检测系统的性能及准确度,是否影响临床样本检测质量,决定后续的质量控制措施。尿微量白蛋白室间质评结果不满意后,我们首先排除仪器、试剂原因,回顾当时室内质控,复测保存质控品以排除偶然误差。回报的室间质评结果显示两种检测方法之间可能存在系统性差异,所以通过功能灵敏度、分析测量范围、准确性比对等性能验证实验对两种检测方法进行分析比较,结果发现对于临床样本,两种检测方法无显著差异。

质评原因分析的重点还在于评估检测系统的准确

表6 透射比浊法/散射比浊法检测临床样本的估计误差

项目	a	b	r	回归方程	SE(mg/24 h尿)		卫计委临检中心1/2PT
					X=30	X=300	
MA	-3.35	1.08	0.996	Y=1.08X-3.35	1.01	20.08	15%
					3.36%	6.69%	

表7 透射比浊法、散射比浊法CAP质评结果分析(mg/L)

组别	第1次CAP质评			第2次CAP质评		
	散射比浊法	透射比浊法	回报范围	散射比浊法	透射比浊法	回报范围
1	996	1003	740.9-1376.1	14.7	14.6	9.7-18.2
2	23.4	23	17.5-32.6	25.7	25	17.6-32.8
3	9.21	9.6	7-13.2	102	83.5	64.3-119.6

表8 与其它实验室进行临床样本检测比对(散射比浊法)(mg/L)

样本编号	第1次			第2次		
	其它实验室	本室	相对偏倚(%)	其它实验室	本室	相对偏倚(%)
1	68.5	72.9	-6.04	17.2	18.1	-4.97
2	1930	1710	12.87	324	322	0.62
3	2	2	0.00	22.8	23	-0.87
4	7.5	7.45	0.67	826	790	4.56
5	9.34	9.13	2.30	2.52	2.42	4.13
6				903	895	0.89
7				688	635	8.35
8				9.54	9.39	1.60

性，确定是否对临床样本进行质量干预措施。CAP的2次室间质评，每次包括检测浓度覆盖高中低水平的3份质控物，两种方法同时检测，结果显示均在回报范围内，而且散射比浊法与透射比浊方法间偏倚很小，成为确认本室两个检测系统准确性的最好依据。另外，与其它实验室相同检测系统的临床样本比对结果满意，说明本实验室检测系统的性能和准确性是可靠的，不需要对临床样本的检测进行其它的质量干预措施。

国内尿微量白蛋白室间质评成绩不满意的原因可能是由于样本基质效应或其它因素的影响，但因获得并展示其它实验室相同检测系统对相同质评物的质评报告不易，不能确定具体原因。最终，室间质评是我们发现实验室质量问题的重要手段，通过质评后问题分析及验证，对于临床检测项目的性能及受影响因素有更进一步的认识[6]。

参考文献：

[1] 张秀明, 庄俊华, 郑松柏, 等. 临床化学发光免疫法检测AFP的分析性能验证与实验方法[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11): 1293-7.

[2] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 100-36.

[3] 杨有业, 张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 118-93.

[4] NCCLS, ISSN 0273-3099. Approved guideline NCCLS document EP6-A[S], 2003.

[5] The National Committee fox Clinical Laboratory Standards. Method comparison and bias estimation using patient samples [Z]. Approved Guideline, 2nd ed EP9-A2, 2002.

[6] 梁敏文, 邸玉玮, 戴耀宗, 等. 总蛋白室间质评成绩不满意原因分析[J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(7): 1515-7.